

研 究 主 論 文 抄 録

論文題目 脊椎動物網膜におけるシナプスおよび細胞レベルの  
信号処理特性に関する新規実験解析手法  
(The new method of experimental analyses on the signal processing  
at synapse and neuron levels in vertebrate retinae)

熊本大学大学院自然科学研究科 情報電気電子工学専攻 人間環境情報講座  
(主任指導 林田祐樹准教授)

論文提出者 本村 珠美  
(Tamami Motomura)

主論文要旨

脊椎動物の視覚神経系は外界の画像情報とのインターフェイスである網膜に始まる。網膜は、長い間、光信号を活動電位群に変換する単純な光電変換組織と考えられていた。しかし現在では、多くの研究結果から、外界の光環境の変化に順応して信号増幅率を変化させたり、注視している物体の動きを背景画像から選択的に抽出したり、外界との時間遅れなく視覚情報が認識されるように補正を行ったりという、過去の共通認識以上に高度な情報処理が行われていることが明らかになっている。しかも、網膜の神経回路はこのような情報処理を、大別すると五種類の神経細胞でほぼ恒久的に安定して行っている。この様にさまざまな環境下で安定した情報処理を実現している網膜の機能の全てを、人工的に実現することは、現在のところほぼ不可能である。したがって、網膜神経回路が行う計算のメカニズムをボトムアップ的に明らかにすることが、将来の優れた人工視覚システムの開発に繋がると期待される。高次視覚情報処理を行う脳内の視覚野と比較すると、網膜内に存在する神経細胞の種類や細胞間信号伝達の部位は限られており、個々の細胞が持つ主要な特性も少しずつ明らかになってきている。そのため、神経回路内における細胞群の結合様式と、シナプスや単一細胞のレベルで行われる信号処理に関する知見とを統合することにより、網膜が持つ情報処理メカニズムの定量的解釈を与えることは、今後不可能ではないと考えられる。そこで本研究では、神経細胞が組織内に在る時に持っている生理学的特性を出来る限り保持した状態で、その特性を定量的に計測するため、細胞試料の新たな作成方法を開発し、その新規試料の有用性を生理学実験により示した。一般的に、神経細胞の特性を単一細胞レベルで調べる場合には、タンパク質分解酵素を用いて組織から細胞を単離するが、本研究では、低  $\text{Ca}^{2+}$  細胞外液と機械的振動を利用して、無酵素で網膜内の神経節細胞層から選択的に細胞を単離抽出し、逆行性染色法により神経節細胞を同定した。これら無酵素条件下で単離した細胞の細胞体から、perforated-patch clamp 法による非線形膜コンダクタンスおよび活動電位発火特性を計測し、それらがタンパク質分解酵素の細胞外投与により著しく変歪されることを明らかにした。これにより、網膜

神経節細胞の信号処理特性に関する過去の計測結果に、酵素処理のアーティファクトが含まれていた可能性を示唆した。つづいて、単離した網膜神経節細胞の細胞体と、そのシナプス前段の抑制性細胞のシナプス終末部とが、シナプス構造と信号伝達機能を保ったままで網膜神経回路網から取り出され、単一種のシナプス後応答を計測できることを実験的に明らかにした。ここでは、神経伝達物質を格納するシナプス小胞がシナプス終末部内へ再取り込みされることを利用して、細胞膜脂質分子結合能を持つ色素 FM1-43 による蛍光染色を用い、単離細胞上に結合したシナプス終末部の存在を示した。また perforated-patch clamp 法による計測から、これらの細胞に膜電位/膜電流の一過性変化が繰り返し発生することを捉え、そのイオンメカニズムおよび膜電位依存性等を電気生理学的手法により明らかにした。さらに薬理学的手法を併用し、その一過性膜電位/膜電流変化が、細胞膜上 GABA<sub>B</sub> 受容体の活性化を介した内向き整流性の K<sup>+</sup>チャネル電流により惹起されるシナプス後応答であることを示唆した。単離細胞試料における GABA<sub>B</sub> 受容体を介するシナプス後応答の分離計測は、網膜神経細胞に限らず、我々の知る限り過去に報告が無く、本研究で初めて明らかになった。さらに、GABA を伝達物質とする網膜神経節細胞への抑制性信号としては、過去に GABA<sub>A</sub> 受容体を介するもののみが報告されていたが、今回の結果は、これに加わる新しい信号入力経路を発見するものとなった。今後、本研究で確立した実験試料作成法を用いて研究をさらに進めることによって、組織レベルと細胞レベルとで個別に得られてきた知見の隔たりを補償していくことが出来ると考える。

学位論文の構成は次の通りである。第1章は序論であり、研究の背景と要旨および論文の構成を述べた。第2章には、本論文の実験結果の理解に必要な神経細胞の電気生理学基礎、研究対象である脊椎動物網膜に関して、神経節細胞に注目しながら現在までに明らかになっている知見、および本研究で用いた電気生理学的・組織化学的な実験手法について概説した。第3章では本研究で新規に確立した単離網膜神経細胞の試料作成法およびその電気生理学的评价の結果について述べた。第4章では、第3章の新規細胞試料を用いたシナプスおよび細胞レベルの実験解析の結果について述べた。第5章では本研究をまとめ、考察・検討を行った。